



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین

دانشکده پیراپزشکی

پایانامه جهت اخذ درجه‌ی کارشناسی ارشد (MSc) در رشته‌ی بیوتکنولوژی پزشکی

عنوان:

شناسایی باکتری اوره آ پلاسما اوره آلیتیکوم توسط روش رنگ‌سنجی مبتنی بر نانوذرات

طلا

استاد راهنما:

دکتر حسین احمدپور یزدی

استاد مشاور:

دکتر امیر پیمانی

نگارش:

ناهید قربانزاده

سال تحصیلی ۹۶-۹۷

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تقدیم

تقدیم به پدرم، پرمحتواترین کتاب زندگیم که نگاه پرمهر و دستان گرمش همیشه نقطه‌ی پایان تمام نگرانی‌هایم بوده است.

تقدیم به مادر عزیزتر از جانم که تحقق تمام آرزوهایش در گرو خواستن‌ها و رسیدن‌های من معنا شده است.

تقدیم به همسفران مهربان زندگی‌ام، خواهر و برادران عزیزم که همیشه مرا از حمایت بی‌دریغشان بهره‌مند ساخته‌اند.

تقدیر و تشکر

با سپاس از خداوند بی‌همتا که آرامش قلبی‌ام تجلی‌گر حضور و یاری بی‌وقفه‌اش در تمام لحظات زندگی‌ام بوده است.

سپاس فراوان از جناب آقای دکتر حسین احمدپوریزدی که راهنمایی این پایان‌نامه را بر عهده داشتند و در تمام مراحل انجام پروژه بنده را از راهنمایی‌های علمی سنجیده و بی‌دریغشان بهره‌مند ساختند.

سپاس از استاد مشاور، جناب آقای دکتر امیر پیمانی که با مشاوره‌های خویش پیمودن این مسیر را برای بنده تسهیل نمودند.

چکیده

سابقه و هدف: اهمیت شناسایی باکتری اوره‌آپلازما اوره‌آلیتیکوم در ارتباط با نقش آن در فراهم کردن بستر بیماری‌های انتقال یافته از راه جنسی به ویژه ناباروری و سقط خودبه خودی برجسته می‌شود. علارغم وجود شماری از روش‌های کشت و روش‌های مولکولی جهت شناسایی این باکتری، حساسیت پایین، زمانبر بودن و هزینه‌ی بالای برخی از این روش‌ها نیاز به توسعه‌ی یک روش تشخیصی جایگزین مناسب را می‌طلبد. در این مطالعه یک حسگر تشخیصی DNA مبتنی بر نانوذرات طلا به کار گرفته شده است که در آن امکان آنالیز حالت‌های پراکنده و تجمعی نانوذرات به صورت بصری (قابلیت تفکیک چشمی رنگ) و طیف سنجی (به دلیل ظهور ویژگی‌های نوری آنها در محدوده‌ی طیف فرابنفش - نور مرئی) مبنای روش تشخیصی قرار گرفته است.

روش بررسی: در این آزمایش نانوذرات طلا پس از ساخت، با یک پروب الیگونوکلوئوتیدی تیوله حاوی توالی اختصاصی نسبت به بخشی از توالی مولکول هدف کونژوگ گردید و سپس برای بررسی شبیهی از غلظت‌های (۱۰-۶۰ نانوگرم) محصول تکثیر شده قطعه‌ی ژنی اوره‌آز از سازه ژنی^۱ مورد استفاده قرار گرفت. داده‌های حاصل از آنالیزهای رنگ سنجی و طیف سنجی شامل تغییرات موقعیت پیک پلاسمون، پهنای پیک در نصف مقدار بیشینه (FWHM)، شدت پیک و شدت تجمع نانوذرات برای تفسیر نتایج استفاده گردیدند.

یافته‌ها: نتایج مشاهدات بصری و نیز آنالیزهای طیف‌سنجی نشان دهنده‌ی حفظ رنگ و شدت تجمع پایین در نمونه‌های مثبت، پس از افزودن القاگر بود که مبین توانایی نانو پروب در شناسایی موفقیت آمیز مولکول هدف بود. محدوده‌ی تشخیصی استفاده شده در شیب غلظتی بین ۱۰-۶۰ نانوگرم بود. در این محدوده با کاهش غلظت، میزان پایین هیبریداسیون به صورت افزایش جزئی شدت تجمع نانو پروب‌ها، پهنای پیک در

^۱ Plasmid Vector

نصف مقدار بیشینه، کاهش شدت پیک و نیز تغییر رنگ نسبی نانوپروب با یک روند وابسته به غلظت، قابل مشاهده بود. در مقابل نمونه‌های حاوی محصول غیرمرتبط و کنترل منفی به دلیل عدم هیبریداسیون نانوپروب با مولکول هدف افزایش چشمگیری در شدت تجمع، FWHM، جابه جایی پیک به سمت طول موج‌های بلندتر و نیز کاهش شدید شدت پیک را نشان دادند. مقایسه‌ی پارامترهای فوق بین نمونه‌های مثبت و کنترل منفی مبین تفاوت معنادار ($P < 0.0001$) آنها بود. رنگ نمونه‌های کنترل نیز به طور کامل به طوسی تغییر یافت.

بحث و نتیجه‌گیری: روش حاضر با برخورداری از اختصاصیت و حساسیت مطلوب با محدوده‌ی تشخیص^۲ ۱۰ نانوگرم از مولکول هدف یک روش تشخیصی کم هزینه، سریع و بدون نیاز به تجهیزات خاص را فراهم می‌کند.

کلیدواژه‌ها: نانوذرات طلا، اوره‌آپلازما اوره‌آلیتیکوم، رنگ سنجی

² Limit of detection